

TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER
KANSERİ HASTALARINDA EGFR
MUTASYON DURUMU İLE
KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİN
KORELASYONU**

Uz. Dr. Olçun Ümit ÜNAL

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İlhan ÖZTOP

İZMİR 2012



TC
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER
KANSERİ HASTALARINDA EGFR
MUTASYON DURUMU İLE
KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİN
KORELASYONU**

Uz. Dr. Olçun Ümit ÜNAL

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İlhan ÖZTOP

İZMİR 2012

TEŞEKKÜR

Tıbbi Onkoloji yan dal uzmanlık eğitimimi Avrupa'nın en seçkin merkezlerinden birinde yapmanın mutluluğunu yaşıyorum..

İhtisasım süresince klinik yaklaşımları ve bilgisiyle bana ışık tutan, emeklerini hiçbir zaman unutamayacağım ve tezimin tümünde emeği geçen Prof.Dr. İlhan Öztop'a teşekkür ederim.

Gerek uzmanlık eğitim süresince gerekse tez hazırlama süresince engin bilgi ve tecrübelerini bize sunan ve kendime daima örnek olarak aldığım Prof.Dr. Uğur Yılmaz'a teşekkür ederim

Tüm eğitim sürecinde önemli destek ve katkılarımı gördüğüm Prof.Dr. Aziz Karaoğlu, Prof. Dr.Binnaz Demirkan, Doç.Dr. Tuğba Yavuzşen ve Doç.Dr. Işıl Somalı'ya teşekkür ediyorum.

İhtisasım süresince beraber çalışmaktan zevk aldığım ihtisas arkadaşlarım Uz.Dr. Tülay Akman, Uz.Dr. Tarık Salman, Uz.Dr. Tuğba Ünek, Uz.Dr. Doğan Koca, Uz.Dr. Necla Demir, Uz.Dr. Utku Oflazoğlu'na teşekkür ederim.

Tezimin istatistik aşamasında yardımlarını unutamayacağım Prof.Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a teşekkür ederim.

EGFR mutasyonu çalışan temel onkoloji biriminin tüm çalışanlarına başta Doç.Dr. Yasemin Baskın olmak üzere teşekkür ederim.

Eşime ve kızım Damla'ya destekleri için teşekkür ederim.

Olçun Ümit ÜNAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER.....	I
KISALTMALAR.....	II
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Akciğer Kanseri.....	3
2.2.Epidemiyoloji.....	3
2.3.Risk faktörleri.....	3
2.4.Semptom ve Bulgular	5
2.5. Patoloji.....	6
2.6.Tanı.....	7
2.7.Evreleme	8
2.8.Akciğer Karsinogenezi.....	10
2.9.KHDAK ve EGFR mutasyonu.....	12
2.10.Tedavi.....	13
3.GEREÇLER VE YÖNTEM	16
4.SONUÇLAR.....	19
5.TARTIŞMA.....	25
6.ÖZET(TÜRKÇE VE İNGİLİZCE)	29
7.KAYNAKLAR.....	31

KISALTMALAR

AJCC: American Joint Committee on Cancer

BAC: Bronkioloalveoler karsinom

EGF: Epidermal büyüme faktörü

EGFR:Epidermal büyüme faktörü reseptörü

IASLC:Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma grubu

KHAK:Küçük hücreli akciğer kanseri

KHDAK:Küçük hücreli dışı akciğer kanseri

Rb: Retinoblastom

RT: Radyoterapi

UICC:International Union Against Cancer

WHO:Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.Hastaların ortalama sağkalım grafiği

Şekil 2.Mutasyon durumuna göre ortalama sağkalım grafiği

Şekil 3. Mutasyon tipine göre ortalama sağkalım grafiği

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Akciğer kanserinde görülen semptom ve klinik bulgular

Tablo 2. WHO 2004 klasifikasyonu

Tablo 3. IASLC, ATS, ERS tarafından önerilen Akciğer Adenokarsinom sınıflaması

Tablo 4. TNM sınıflaması

Tablo 5. Evreleme grupları

Tablo 6. Hasta özellikleri

Tablo 7. Hastaların metastaz özellikleri

1.GİRİŞ

Akciğer kanseri tüm dünyada ve Türkiye’de önemli bir sağlık sorunudur. Son yıllarda sigara kullanımına paralel olarak insidansında artış söz konusudur. 2003 yılında Dünya Sağlık Örgütünün yayınladığı verilere göre dünya genelinde her yıl 1.2 milyondan fazla yeni akciğer kanseri olgusu saptanmaktadır. Ülkemizde akciğer kanseri insidansı 100.000’de 30.13’dür. Tüm kanserler içinde erkeklerde 1. kadınlarda ise 4.sırada yer almaktadır. Her iki cinste de kanser nedenli ölümler arasında ilk sırada yer almaktadır. Mevcut tedavi yöntemleriyle tüm evrelerde 5 yıllık yaşam oranı yaklaşık %15 gibi düşük bir orandadır. Akciğer kanseri, KHDAK ve KHAK olmak üzere iki gruba ayrılarak incelenir. KHDAK tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %87’sini oluşturur. KHDAK başlıca üç tipe ayrılır: Yassı epitel hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom, adenokarsinom. Bunlar içinde en sık görülen alt tip adenokarsinomdur.

Tanı anında akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %51’i metastatik, %25 bölgesel lenf nodlarına yayılmış ve %16’sı da primer bölgede sınırlı saptanmaktadır, geri kalan %8’inin ise evrelerine ait bilgi saptanamamaktadır. 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla lokalize evre için %49, bölgesel için % 20,6, metastatik hastalık için %2.8 ve evrenemeyen grup için %8.3 olarak bildirilmektedir.

Akciğer kanserinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemelere rağmen son 30 yılda ortalama yaşam süresinde az miktarda bir uzama sağlanabilmiştir. Ayrıca erken tanı için de şu ana kadar etkin bir yöntem bulunamamıştır. Bunun üzerine son yıllarda yaşam süresini daha fazla uzatabilecek tedavi yöntemleri arayışına gidilmiştir. Bu anlamda anjiyogenez yolunu hedefleyen antianjiyogenik tedavilerle EGFR yolunu hedefleyen EGFR inhibitörleri ile önemli gelişmeler kaydedilmiş ve bu tedavilerin katkısı ile yaşam süresinde kısmi ancak anlamlı düzeyde bir uzama sağlanmıştır. EGFR, intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahip hücre içi birimi olan bir transmembran glikoproteinidir. Hücre dışı birim ligand ile bağlandığında reseptör hücre yüzeyinde homodimer ve heterodimer yapılar oluşturur. Ligand bağlandığında intrasitoplazmik kısımda otofosforilasyon meydana gelir ve hücre içi tirozin kinaz aktive olur. Bunun sonucunda RAS-RAF-MAPK, PI3K/AKT1, protein kinaz C, ERK1/2 gibi sinyal ileti yolları aktive olur. EGFR overekspresyonu tümör hücre büyümesi, adezyonu, yeni damar oluşumu ve metastaza neden olmaktadır.

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde en sık EGFR ve K-Ras olmak üzere daha az sıklıkta c met, EML/AKT, C kit, BRAF ve diğer mutasyonlar tanımlanmıştır. EGFR mutasyonu

adenokarsinom histolojisiinde %15-35 sıklığıında, diğeri histolojilerde % 5 sıklığıında saptanmıştır. EGFR mutasyonları belirli klinik özelliklerle birliktelik göstermekte olup özellikle asyalılarda, kadın cinsiyette ve hiç sigara içmeyenlerde daha sık saptanmaktadır. EGFR mutasyonu saptanan olgularda bu yolağın hücre içi tirozin kinaz aktivitesini bloke eden erlotinib ve gefitinib isimli ajanlarla yüksek yanıt oranları elde edilmekte ve yaşam sürelerinde ciddi uzamalar sağlanabilmektedir. Aksine EGFR mutasyonu pozitif olan hastalarda kemoterapi ve radyoterapi gibi konvansiyonel tedavi yöntemlerinin etkinliği çok düşük olmaktadır. Buna rağmen yapılan çalışmalarda EGFR mutasyonu pozitif olanların ortalama sağkalımlarınının daha yüksek bulunması bu mutasyonun varlığının bir iyi prognoz göstergesi olduğunu işaret etmektedir.

Biz bu çalışmamızda KHDAA hastalarında EGFR mutasyon durumu ile klinikopatolojik özellikler ve sağkalımla ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri 20. yüzyılın başında nadir bir hastalıkken sigara içimindeki artışa paralel sıklığı artmış ve günümüzde en sık görülen kanserler arasındadır. Akciğer kanseri küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki tipte incelenmektedir.

2.2 Epidemiyoloji

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen kanser olup 2008 yılında 1.600.000 yeni vaka tespit edilmiştir (1). Tüm kanser vakalarının %12.8 sini ve kanser ölümlerinin %17.8 sini akciğer kanseri oluşturmaktadır (2). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre akciğer kanseri erkeklerde en sık ölüme yol açan kanserken kadınlarda ikinci sıklıkta ölüme yol açan kanserdir (3).

Ülkemizde akciğer kanseri konusunda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar çıkmıştır. İlk çalışma 1993-1994 yılları arasında İzmirde yapılmış ve akciğer kanseri insidansı yüzbinde 61,6 bulunmuştur(4). Bunun aksine 1999 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri insidansı yüzbinde 14,2 dir. Bu iki çalışmadaki farklılık veri toplamadaki sorunlar ve verilerin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Yine ülkemizde 2004-2006 yılları arasında sekiz ilde yapılan epidemiyolojik çalışmada erkeklerde 1. sıklıkta akciğer kanseri görülürken kadınlarda 4. sıklıkta (meme, kolorektal ve tiroid kanserinden sonra) görülen kanser türüdür.

Akciğer kanseri için tanımlayıcı iki önemli epidemiyolojik özellik yaş ve cinsiyettir. Genel olarak 6. ve 7. dekatta akciğer kanseri görülürken 50 yaş altında çok az görülmektedir. 50 yaş altında genellikle ailesel öykü mevcuttur ve adenokanser en sık izlenen tiptir. Akciğer kanseri hastalarının %90'ından fazlası erkek olup kadınlarda daha az sıklıkta görülmektedir. Kadın cinsiyette 50 yaş altında daha fazla görülmektedir.

2.3 Risk Faktörleri

Birden çok çevresel faktör ve yaşam şekli suçlanmış olsa da akciğer kanserinin en önemli risk faktörü sigara içimidir.

2.3.1. Sigara içimi: Akciğer kanseri gelişiminden %94 oranında sigara sorumludur. Sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, içilen sigara sayısı, sigara tipi (filtreli, filtresiz, nikotin içeriği v.b.) akciğer kanseri gelişimini etkiler. Pasif sigara içiminde risk %3.5 iken 40 paket/yıl üzerinde sigara içenlerde hiç içmeyenlere göre 20 kat fazla akciğer kanseri görülmektedir (5). Sigara ile birlikte diğer karsinogenlerin maruziyeti özellikle de asbest maruziyeti riski daha da artırmaktadır.

2.3.2. Radyoterapi(RT): Akciğer kanseri dışındaki malignitelerde uygulanan RT primer akciğer kanseri riskini artırmaktadır. Bu duruma en önemli örnek meme kanseri nedeniyle adjuvan RT uygulanan hastalardır. Bir retrospektif çalışmada meme kanseri nedeniyle adjuvan RT alan ve sigara içen 477 kadından 133'ünde RT aldığı tarafta 2.primer akciğer kanseri gelişmiştir (6). Aynı şekilde hodgkin hastalığı nedeniyle RT alan hastalarda da daha sık 2.primer akciğer kanseri gelişmektedir (7,8).

2.3.3. Çevresel ve mesleki faktörler: Asbest, radon, metaller (nikel, krom,arsenik) ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar akciğer kanseri riskini artırmaktadır (5).

2.3.4. Geçirilmiş Akciğer Hastalıkları: Akciğerde skatris bırakan hastalıklarda (tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, abse, interstisyel akciğer hastalığı), skar dokusunun kanser gelişimine zemin oluşturduğu ve akciğer kanseri riskini artırdığı belirtilmektedir. Özellikle bu tür hastalarda sigara içimi riski daha da artırmaktadır (9).

2.3.5. Diyet: Akciğer kanseri gelişiminde diyetin rolü %5 den azdır (10). Vitamin A ve β karotenden fakir diyet akciğer kanseri riskini artırmaktadır. Vitamin E ve selenyum antioksidan etkiyle akciğer kanseri riskini azaltmaktadır. Yüksek yağlı diyetle beslenen sigara içicilerinde akciğer kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir. Bu bilgilere rağmen kemoprevensiyon çalışmalarından olumlu sonuç alınamamıştır (11).

2.3.6. Genetik Faktörler: Akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hem sigara içmeyen yakınlarında akciğer kanseri riski 2.4 kat artmıştır. Akciğer kanseri ile ilişkili gen grupları P450 enzim sistemlerinde yer alan aril hidrokarbon hidroksilaz enziminde bulunmaktadır. En çok suçlananlar CYP1A1 ve CYP2A6 dır (12).

2.4. Semptom ve bulgular

Akciğer kanserli hastaların çoğu semptomatiktir. En sık görülen semptomlar hastalığa spesifik olmayıp kilo kaybı, halsizlik ve öksürüktür. Hastalarda bulunan semptom ve klinik bulgular 4 grupta incelenir ve Tablo 1 de belirtilmektedir.

Tablo 1. Akciğer kanserinde görülen semptom ve klinik bulgular (13)

Primer tümörün büyümesine bağlı semptom ve klinik bulgular Öksürük Nefes darlığı Hemoptizi Stridor Pleural-perikardiyal sıvı Atektazi Amfizem(segmental) Lokalize ronkus Tekrarlayan ve rezolusyonu gecikmiş pnömoni
İntratorasik yayılıma bağlı semptom ve klinik bulgular Vena cava superior sendromu Göğüs ağrısı Hemidiafram yüksekliği(frenik sinir tutulumuna bağlı) Kosta destrüksiyonu Ses kısıklığı Omuz, kol ağrısı Myozis, ptozis,tek taraflı enoftalmi
Tümörün extratorasik yayılımına bağlı semptom ve klinik bulgular Lokalize kemik ağrısı Hepatomegali Karaciğer enzimlerinde yükseklik Anemi İştahsızlık, kilo kaybı, ateş, halsizlik
Paraneoplastik sendromlar Cushing sendromu Uygunsuz ADH sendromu Mononöritis multipleks Çomak parmak ve hipertrofik osteoartropati

2.5. Patoloji

Akciğer kanserinin histolojik sınıflaması ışık mikroskopi görüntülerine ve standart histolojik boyama tekniklerine göre yapılmaktadır. İlk histolojik sınıflama 1981 yılında yapılmış fakat bu sınıflamadaki yetersizlikler görülerek 2000 yılında yeni bir sınıflama yapılmıştır. Akciğer kanserindeki epidemiyolojik, histogenetik ve moleküler bazdaki gelişmelere paralel 2004 yılında WHO tarafından yeni bir sınıflama yapılmış ve güncel olarak kullanılmaktadır (14). WHO tarafından önerilen son sınıflama Tablo 2'dir.

Tablo 2. WHO 2004 klasifikasyonu

I	Skvamöz hücreli karsinom 1. Papiller 3. Küçük hücreli 2. Böbrek hücreli 4. Bazaloid
II	Küçük hücre karsinom 1. Kombine küçük hücre karsinom
III	Adenokarsinom 1. Asiner 2. Papiller 3. Bronkioloalveoler karsinom(BAC) a. Müsinöz b. Müsinöz olmayan c. Kombine karsinom(müsinöz olan veya olmayan) 4. Müsinli solid adenokarsinom 5. Karışık alt tipli adenokarsinom 6. Varyantlar a. İyi ayrılmamış fetal adenokarsinom b. Müsinöz(kolloid) adenokarsinom c. Müsinöz kistadenokarsinom d. Taşlı yüzük adenokarsinom e. Berrak hücreli adenokarsinom
IV	Büyük hücreli karsinom 1. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom a. Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom 2. Bazaloid karsinom 3. Lenfo epitelyoma benzeri karsinom 4. Berrak hücreli karsinom 5. Rabdoid fenotipinde büyük hücreli karsinom
V	Adenoskvamöz karsinom
VI	Pleomorfik karsinoma, sarkomatoid veya sarkomatöz elementler 1. İğ hücreli veya dev hücreli karsinom a. Pleomorfik karsinom b. İğ hücreli karsinom c. Dev hücreli karsinom 2. Karsinosarkom 3. Pulmoner blastom 4. Diğer tipler
VII	Karsinoid tümör 1. Tipik karsinoid 2. Atipik karsinoid
VIII	Tükruk bezi tipindeki karsinom 1. Mukoepidermoid karsinom 2. Adenoid kistik karsinom 3. Diğer tipler
IX	Sınıflandırılmamış karsinom

Akciğer kanserinde moleküler ve immunohistokimyasal yöntemlerin daha yaygın kullanılmaya başlanması ve özellikle adenokarsinom histolojisinde farklı hedef yolların

tanımlanması, bu hedeflere yönelik ilaçların kullanılmaya başlanması üzerine 2011 yılında adenokarsinom için yeni bir sınıflama yapılmıştır. Yeni sınıflama Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma grubu (IASLC), Amerikan Toraks Derneği (ATS) ve Avrupa Solunum Derneği (ERS) tarafından ortak çalışma olarak yapılmış ve 13 onkolog, 10 patoloğ, 7 molekuler biyolog, 5 torasik radyolog ve 6 torasik cerrahın önerisi ile yayınlanmıştır(15). Yeni akciğer adenokarsinom sınıflaması Tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 3. IASLC, ATS, ERS tarafından önerilen Akciğer Adenokarsinom sınıflaması

Preinvaziv lezyonlar Atipik adenomatöz hiperplazi Adenokarsinoma in situ(≤ 3 cm önceden BAC) Nonmusinöz Musinöz Mix musinöz/nonmusinöz
Minimal invaziv adenokarsinom(≤ 3 cm lepidik predominant tümör ile ≤ 5 mm invazyon) Nonmusinöz Musinöz Mix musinöz/nonmusinöz
İnvaziv adenokarsinom Lepidik predominant(Önceden nonmusinöz BAC paterni ile >5 mm invazyon) Asinar predominant Papiller predominant Micropapiller predominant Müsin üreten solid predominant
İnvaziv adenokarsinom varyantları İnvaziv musinöz adenokarsinom Kolloid Fetal(düşük ve yüksek grade) Enterik

2.6. Tanı

Akciğer kanseri ön tanısı olan hastalar ayrıntılı anamnez, fizik muayene ve akciğer grafisi ile ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Akciğer grafisinde nodül, kitle, hiler genişleme, atelektazi, plevral efüzyon gibi bulgular akciğer kanseri tanısını düşündürmektedir. Akciğer kanseri şüphesi

olan olgularda tanıda azami fayda sağlayacak ve gereksiz invaziv işlemlerden kaçınılarak tanısal işlem seçimi yapılır. Balgam sitolojisi en az invaziv işlemdir ve özellikle bronkoskopi gibi invaziv işlemleri reddeden veya invaziv işlemlerin kontrendike olduğu hastalarda kullanılmaktadır. Tanı için yapılan invaziv işlemler bronkoskopik tetkikler, transtorasik biyopsiler ve cerrahi biyopsilerdir. Bunların dışında pleuradan torasentez yoluyla alınan pleural sıvı sitolojisi ile de tanıya gidilebilir. Bronkoskopi ve transtorasik biyopsi ile tanı konulamayan olgularda metastatik alanlardan (kemik, karaciğer ve benzeri) biyopsi alınarak tanıya gidilebilmektedir.

2.7. Evreleme

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri'nde uluslararası kabul görmüş Tümör-Nod-Metastaz (TNM) sistemi evrelemede kullanılmaktadır. Bu sistem primer tümör karakteristikleri (T), Bölgesel lenf nodu tutulumunun varlığı (N), ve uzak metastaz varlığı veya yokluğuna (M) dayanmaktadır. T, N ve M derecelerine göre 1'den 4'e kadar evrenmektedir. Eğer T, N ve M'in durumu belirlenmezse sonuna x eklenir (örneğin Nx gibi). Evreleme sistemi tedavi ve prognoz belirlenmesini sağlar. Daha önceki yıllarda kullanılan evreleme sistemleri 2010 da tekrar gözden geçirildi. Gözden geçirilme nedenlerinden en önemlisi evre 3B grubu hastaların prognozunun evre 4 gibi seyretmesidir. Bunun üzerine 7. TNM evreleme sistemi olarak IASLC tarafından geliştirildi. 2010 da American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve International Union Against Cancer (UICC) tarafından onaylanmış ve günümüzde kullanıma girmiştir (16). Evrelemeye ait ayrıntılı bilgiler tablo 4 ve 5'de verilmiştir.

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri'nde evreleme amaçlı direkt grafiler, bilgisayarlı tomografi, kemik sintigrafi, magnetik rezonans görüntüleme, pozitron emisyon tomografisi kullanılmaktadır. Ayrıca mediastinal lenf nodlarında metastaz varlığını anlayabilmek için mediastinoskopi yapılabilir.

Tablo 4. TNM sınıflaması

Tx	Sadece pozitif sitoloji
T0	Primer tümör belirtisi yok
T1	En geniş çapı ≤ 3 cm,
T1a	En geniş çapı ≤ 2 cm
T1b	En geniş çapı 2-3cm
T2	Ana bronшта karinadan uzaklık ≥ 2 cm, viseral pleura invazyonu, parsiyel atelektazi
T2a	En geniş çapı $>3-5$ cm
T2b	En geniş çapı $>5-7$ cm
T3	En geniş çapı >7 cm; göğüs duvarı, diafram, perikardium, mediastinal pleura invazyonu. Ana bronшта karinadan uzaklık < 2 cm, total atelektazi, aynı lobda farklı tümör nodül(leri)ü
T4	Mediasten, kalp, büyük damar, karina, trakea, özefagus, vertebra invazyonu; aynı akciğerde farklı lobda tümör nodül(leri)ü
N0	Lenf nodu metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşial veya hiler lenf nodu metastazı
N2	Subkarinal veya aynı taraf mediastinal lenf nodu metastazı
N3	Kontralateral mediastinal veya hiler, aynı veya karşı taraf skalen veya supraklavikuler lenf nodu metastazı
M0	Uzak metastaz yok.
M1	Uzak metastaz
M1a	Karşı akciğerde tümör nodül(leri)ü;plevral nodüller ya da malign plevral ya da perikardiyal effüzyon
M1b	Uzak metastaz

Akciğer kanserli hasta değerlendirilirken çeşitli TNM evrelemeleri tanı ve tedavinin değişik safhalarında yapılabilmektedir. Bu evrelemeler aşağıda belirtilmektedir.

- a) cTNM: Klinik evreleme: Hasta ilk görüldüğünde yapılan değerlendirme esnasındaki evrelemedir.
- b) sTNM: Cerrahi evreleme: Ameliyat sırasında cerrah tarafından yapılan evrelemedir.
- c) pTNM: Patolojik evreleme: Ameliyat sırasında alınan dokuların histopatolojik

olarak incelenmesi sonrasında yapılan evrelemedir.

- d) rTNM: Tedavi sonrası yeniden evreleme (relaps/rekurrens durumunda): Primer tedavi yetersiz kaldığı zaman progresyon izlenen hastanın yeniden evrelendirmesini tanımlamaktadır.
- e) aTNM: Otopsi evrelemesi: Postmortem olarak akciğer kanserli hastanın evrelemesini tanımlamaktadır.

Tablo 5. Evreleme grupları

Evreleme grupları	T	N	M
Gizli karsinom	Tx	N0	M0
Evre IA	T1a,b	N0	M0
Evre IB	T2a	N0	M0
Evre IIA	T2b	N0	M0
	T1a,b	N1	M0
	T2a	N1	M0
Evre IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T1 a,b T2a,b	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
	T4	N0,N1	M0
Evre IIIB	T4	N2	M0
	Herhangi T	N3	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.8. Akciğer karsinogenezi

Akciğer kanseri diğer kanserlerde olduğu gibi onkogenleri ve tümör supresör genleri etkileyen genetik değişiklikler sonucu meydana gelir. Akciğer karsinogenezisinde major genetik değişiklikler aşağıda sıralanmaktadır:

- a) Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu
- b) Tümör supresör genlerin inaktivasyonu
- c) Hücre siklus regulasyonunda görev alan genlerdeki değişiklikler
- d) DNA tamirinde görev alan genlerde meydana gelen değişiklikler
- e) Büyüme faktörleri ve reseptörlerine ait değişiklikler

2.8.1. Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri'nde tanımlanan onkogen mutasyonları Ras ve Myc geni üzerinde görülmektedir. Ras ailesinde 3 farklı mutasyon görülse de KHDAK'nde en sık ve %15-50 arasında Kras mutasyonu görülür (17). KHDAK'nde Kras mutasyonu azalmış sağkalım, erken nüks ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (18-22).

Myc geni C-myc, N-myc, L-myc'den oluşmaktadır ve amplifikasyon ve transkripsiyonel disregulasyon ile onkogen haline dönüşmektedir. KHDAK'nde %8-20 myc aktivasyonu izlenmekte ve tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda kısalma ile ilişkili bulunmuştur (23).

2.8.2. Tümör supresör genlerin inaktivasyonu

İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen p53 olup KHDAK'nde %33-65 arasında görülmüştür (24-25). KHDAK'ta p53 mutasyonu sigara içimi ile bağlantılı olup çoğu karsinogenlerin oluşturduğu G-T transversiyonudur(26-27). P53 mutasyonu akciğer kanseri erken tanısında kullanılması ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Retinoblastom (Rb) geni ilk bulunan tümör supresör gen olup hücrel diferansiyasyonda önemli yere sahiptir. Rb gen yokluğu KHDAK'nde %10-30 sıklığında bulunmaktadır (28,29).

2.8.3. Hücre siklus regulasyonunda görev alan genlerdeki değişiklikler

Hücre siklusu G1, S, G2, M fazlarından oluşmaktadır. Hücre büyümesi G1 fazında restriksiyon noktası (R) tarafından koordine edilir. Hücreler R noktasında büyüme faktörlerine ve büyüme uyarılarına duyarlıdır. Akciğer karsinogenezinde R noktasındaki değişiklikler kontrolsüz hücre proliferasyonu ile sonuçlanmaktadır (30).

2.8.4. DNA tamirinde görev alan genlerde meydana gelen değişiklikler

Hatalı ve yetersiz DNA tamiri, kanser oluşumunu temel mekanizmalarından biridir. Akciğer kanserinde sigara içimi ile maruz kalınan karsinojenlerin bazıları DNA hasarları oluşturmaktadır. DNA hasarını gidermek üzere işlev gören genler kromozom 3p üzerinde lokalizedir. Kromozom 3p kayıpları akciğer kanseri riskini 14 kat kadar artırmaktadır (31).

2.8.5. Büyüme faktörleri ve reseptörlerine ait değişiklikler

Akciğer kanseri hücreleri normal insan hücreleri gibi bir çok büyüme faktörü ve reseptörü eksprese eder. Normal hücrelerde dengeli büyüme için düzenleyici sistemler bulunurken kanser hücrelerinde bu dengeler bozulmuştur.

Epidermal büyüme faktörü (EGF) Stanley Kohen tarafından 1962 yılında keşfedilmiş ve keşiften 25 yıl sonra Nobel tıp ödülü kazandırmıştır (32). EGF farklılaşma ve büyümeyi etkileyerek organizmanın ve tümörün gelişmesini sağlar. EGFR proteini, 7p12 bölgesinde lokalize ve 28 ekson içeren EGFR geni tarafından sentezlenen 170 kilodalton büyüklüğünde bir transmembran glikoproteindir (33) . Ligandların tanınması ve bağlanmasını sağlayan bir extrasellüler alt birim, hidrofobik özelliğe sahip bir alt birim ve EGFR geninin 18. ve 24. ekzonlarınca kodlanan protein kinaz aktivitesine sahip bir intrasellüler alt birimden oluşmaktadır(34). EGF reseptör ailesi tirozin kinaz aktivitesi gösteren dört üyeden oluşmaktadır: EGFR=ErbB-1=HER1, ErbB-2=neu=HER2, ErbB-3=HER3 ve ErbB-4=HER4.

EGFR ailesi kanserde aktivasyonların veya aşırı homodimerizasyon ve heterodimerizasyon ile bağlanarak, onların aktivasyonunu sağlayan EGF, Transforme edici büyüme faktörü, amfiredulin, betaselulin, epigulin ve epigen gibi farklı ligandları vardır (35).

2.9. KHDAA ve EGFR mutasyonu

Epidermal büyüme faktörü reseptörü aşırı ekspresyonu KHDAA ve diğer epitelyal tümörlerde (meme,serviks, over, renal ve benzeri) görülebilmektedir. Başlangıçta EGFR ekspresyonu antiEGFR tedavilere yanıtı öngördüğü düşünülürken sonraki çalışmalar EGFR

somatik mutasyonlarının yanıtı daha iyi predikte ettiği gösterilmiştir (36,37). EGFR geni üzerindeki somatik mutasyonlar 18,19,20,21. ekzonlarda meydana gelmektedir (38). Ekzon 19 ve 21 somatik mutasyonları EGFR mutasyonlarının % 80 inden fazlasından sorumludur. Ekzon 19 somatik mutasyonu ekzon 19 delesyonu ile lösin-arjinin-glutamat-alanin motifi ortadan kalkar. Ekzon 21 somatik mutasyonu L858R nokta mutasyonunda timin-guanin transversiyonu arjinin yerine lösin geçmesi ile oluşur. Ekzon 20 mutasyonu 790. pozisyonda treonin yerine metiyonin geçmesi sonucu oluşan T790M mutasyonudur. Ekzon 19 ve 21 iyi prognozla ilişkilendirilmişken ekzon 20 direnç ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (39-44).

EGFR mutasyonu bugüne kadar yapılan çalışmalarda KHDAK'nde 4 parametre ile ilişkilendirilmiştir: Adenokarsinom histolojisi, kadın cinsiyet, sigara içmemiş olmak ve asya etnik kökeninde olmak (39). EGFR mutasyonu adenokarsinom histolojisinde %15-35 sıklığında, diğer KHDAK alt tiplerde % 5 sıklığında saptanmıştır.

2.10. Tedavi

KHDAK'nde tedavi, hastalığın evresi, hastanın performans durumu ve komorbid hastalıkları gözönüne alınarak planlanmalıdır.

2.10.1. Evre I-II tedavi

Evre I-II tümörlerinin tedavisinde standart yaklaşım, cerrahi olarak tümörün ilgili akciğer dokusuyla beraber çıkartılması ve hiler, mediastinal lenf bezi diseksiyonu ile tam rezeksiyonudur (45,46). Akciğer rezervi sınırlı olgularda, segmentektomi, wedge rezeksiyon düşünülebilir (47). Medikal inoperabl olan ya da operasyonu kabul etmeyen olgularda torasik RT uygulanabilir (48). Günümüzde opere olgularda adjuvan kemoterapinin Evre IA'da yeri yoktur, evre IB'de ise yararı olmadığı yönündeki deliller daha kuvvetlidir. Fakat 4 santimetreden büyük tümör olması, kötü diferansiyasyon, nöroendokrin karsinom gibi kötü prognostik faktörlerin olduğu durumlarda adjuvan kemoterapi önerilmektedir. Evre II'de yeni platin kombinasyonları ile adjuvan kemoterapi uygulamasının yararı konusunda deliller bulunmaktadır (49). Postoperatif RT uygulamasının yararı tartışmalıdır fakat cerrahi sınır pozitif olanlarda yararı gösterilmiştir (50).

2.10.2. Evre III tedavi

Evre 3 KHDAK’de kombine tedaviler bir arada kullanılır ve multidispliner bir ekip tarafından tedaviye karar verilir.

2.10.2.1. Evre IIIA tedavi

T3N1 olgularda tercih edilecek tedavi, hastalığın cerrahi olarak tam rezeksiyonudur(51). Ardından adjuvan kemoterapi uygulanması gerekmektedir. N2 olgularda neoadjuvan kemoterapi ya da neoadjuvan kemoradyoterapi üzerinde son 10 yıldır yoğun bir tartışma mevcuttur. Bu konuda az sayıda faz III olmak üzere pek çok çalışma yayınlanmıştır ya da halen yürümektedir. N2 olgularda neoadjuvan KT sonrası “down stage” gözlenirse cerrahi uygulanması yönünde görüş birliği vardır. “Down stage” olmayan olgularda cerrahinin yeri tartışmalıdır ve pnömonektomi gerektiren olgularda yüksek mortalite riski nedeniyle cerrahiden kaçınılmalıdır. Bulky N2’si olan olgularda uygun tedavi seçeneği kemoradyoterapidir (52-54).

2.10.2.2. Evre IIIB tedavi

Evre 3B de standart tedavi ardışık veya kombine kemoradyoterapidir (55). Kombine kemoradyoterapi tek başına kemoterapi veya radyoterapiden üstün bulunmuştur (56).

2.10.3. Evre IV tedavi

Evre 4 hastalığın tedavisinin temelini platin bazlı kemoterapiler oluşturmaktadır. Cerrahi seçeneği olmadığı bilirse de tek metastazı özellikle surrenal veya beyin metastazı olanlarda rezeksiyon yapılması sağkalımı uzatmaktadır. Platin bazlı kemoterapi uygulamaları ile hem yaşam süresinde uzama hem de kanserle ilişkili semptomlarda azalma sağlanır. Sisplatin bazlı kemoterapiler carboplatin bazlı rejimlerden daha üstündür. Platin yanına farklı kemoterapötik ajanların eklenmesi benzer etkinlikte bulunmuştur. Sisplatin bazlı rejimlerde yanıt oranı %30-40, progresyona kadar geçen süre 5-7 ay, ortalama sağkalım 8-9 ay bulunmuştur. İlk sıra platin bazlı rejimle başarısızlık sonrası 2. basamakta dosetakselin etkili olduğu gösterilmiştir.

İlk sıra tedavi sonrası başarısızlıkta hedefe yönelik ilaçlar kullanılmaktadır. Hedefe yönelik ilaçlardan en önemlisi EGFR hedefleyen erlotinib ve gefitinibtir (39). Bu iki ajana klinik çalışmalarda yanıtı öngördüren 4 klinik parametre tanımlanmıştır:

- 1) Kadın cinsiyet
- 2) Sigara içmemiş olmak
- 3) Adenokarsinom histolojisi
- 4) Asya etnik kökeninde olmak

Bu 4 klinik parametreden öte EGFR mutasyon tipide tedaviye yanıtı öngördürmekte ve yapılan çalışmalarda ekzon 19 mutasyonu ekzon 21 mutasyonuna oranla daha yüksek yanıt oranı göstermiştir (39). Ayrıca ekzon 20 mutasyonu erlotinib veya gefitinib direnci ile bağlantılı bulunmuş ve bu nokta mutasyonu görülenlerde yanıt oranı düşük bulunmuştur (44).

3.GEREÇLER VE YÖNTEM

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan 19.04.2012 tarih ve 578-GOA protokol numarası ve 2012/15-17 karar numarası ile izin alınmıştır.

Hasta seçimi:

Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bölümünde 2005-2012 yılları arasında izlenen ve EGFR mutasyon analizi yapılmış olan KHDAK tanılı 48 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- 1) Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı almış olmak
- 2) Evrelendirme tetkiklerinin yapılmış olması
- 3) EGFR mutasyon testi yapılmış olmak ve test için bilgilendirilmiş onam formunu imzalamış olmak
- 4) Hasta dosyalarında klinik ve patolojik özelliklerinin olması

Çalışmanın dışlanma kriterleri:

- 1) Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı almamış olmak
- 2) Yetersiz evreleme tetkiki yapılmış olmak
- 3) EGFR mutasyon testi yapılmamış hastalar
- 4) Mutasyon testi için bilgilendirilmiş onam formunu imzalamamış olmak
- 5) Klinik ve patolojik bilgileri eksik olan hastalar

Değerlendirilen Parametreler ve Yöntem:

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların demografik ve klinik verileri olan tanıda yaş, cinsiyet,

sigara anamnezi, ECOG performans statusu onkoloji dosyalarındaki veriler baz alınarak kaydedildi. Hastaların histopatolojik tanısı onkoloji dosyasındaki veya hastane otomasyon sistemindeki patoloji raporlarından elde edildi. Hastaların evrelendirmesinde Uluslararası Evreleme Komitesi tarafından yayınlanan son TNM evrelendirmesi (AJCC 7. baskı) kullanıldı. Bu evrelemeden önceki evreleme sistemi ile değerlendirilmiş hastalar AJCC 7. baskı baz alınarak tekrar evrelendirildi. EGFR mutasyon durumu onkoloji dosyalarından elde edildi. Tümörün metastaz yeri PET CT, Bilgisayarlı Tomografi, manyetik rezonans görüntüleme(MRG), kemik sintigrafisi, direkt grafiler gibi görüntüleme yöntemleri kullanılarak tespit edildi.

Sağkalım analizlerinde genel sağkalım oranı ilk tanı tarihinden ölüme ya da son izlem tarihine kadar geçen süre olarak hesaplandı ve ölüm tarihleri hastane otomasyon sistemi ve onkoloji hasta dosyaları yardımıyla elde edildi. Altı ay ve daha uzun süreyle kontrol amaçlı hastaneye başvurmayan hastaların son durumlarının belirlenmesi için telefon aracılığıyla hasta veya yakınlarına ulaşıldı.

EGFR mutasyon analizi:

Dokuz Eylül Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden elde edilen tümörü represente eden uygun parafin bloklardan doku örneği elde edilmiştir. Kullanılan örnekler patoloji parafin bloklarında yeterli örnek varsa alınmıştır. Patoloji laboratuvarında mikrotomun alkolle silinmesinden sonra 10 mikron kalınlığında alınan kesitler, Temel Onkoloji Anabilim Dalı tarafından sağlanan steril ependorf tüplerine konmuştur. Tüplerdeki dokulara Temel Onkoloji Laboratuvarında spin kolum yöntemi ve parafin dokudan DNA ekstraksiyon kiti kullanarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ardından spektrofotometre ile elde edilen DNA'nın miktarı ölçülüp yeterlilik değerlendirildikten sonra bilinen EGFR mutasyonları (18-21 ekzonları) microarray yöntemiyle moleküler olarak değerlendirilmiştir. Altın standart olarak DNA sekanslama yöntemi kullanılmıştır.

İSTATİKSEL ANALİZ:

Elde edilen tüm veriler excell 2007 for Microsoft programına kaydedildi. İstatistiksel değerlendirme ve analiz için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 istatistik programından yararlanıldı. Sağkalım analizi için kaplan meier testi kullanıldı ve karşılaştırmalar için log rank analizi yapıldı. Sağkalım analizi için başlangıç tarihi olarak metastaz veya lokal ileri evre tanı tarihi, son kontrol tarihi olarak yaşayan hastalarda son kontrol tarihi, exitus olanlarda exitus tarihi alındı. İki grup ortalamasını karşılaştırmak amacıyla grup sayısı 30 ve üzerinde olduğunda *t* testi, 30'un altında olduğunda Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel analizler için ki kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin 0.05 den küçük olması kabul edilmiştir.

4.SONUÇLAR

Hasta özellikleri:

Hastaların 41'i erkek 7'si kadındı. Tüm hastaların ortalama yaşı 63,2 (41-80) idi. Hastalardan 5'i hiç sigara içmemiş, 16'sı tanıdan en az 6 ay önce bırakmış, 27'si tanı anında sigara içmeye devam etmekteydi. Sigara içenlerde ortalama 40 (minimum 10 maximum 90) paket-yıl sigara anamnezi mevcuttu. ECOG performans statusu 37 hastada 0 iken 9 hastada 1, 2 hastada 2 olarak saptanmıştı. Hastalardan 41'i metastatik evrede, 7'si ise lokal ileri evrede idi. Hastalardan 32'sinde adenokarsinom, 7'sinde skuamöz hücreli karsinom, 4 hastada büyük hücreli karsinom, 5 hasta diğer histolojik tiplerdeydi. Hasta özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6.Hasta özellikleri

Erkek/kadın	41/7
Yaş (ortalama,aralık)	63.2 (41-80)
Sigara içme oranı (%)	89.6
ECOG performans durumu	
0	37
1 ve 2	11
Evre (n)	
Lokal ileri	7
Metastatik	41
Histopatoloji	
Adenokarsinom	32
Skuamöz	7
Büyük hücreli	4
Diğer *	5

* Diğer histopatolojik tipler: 4'ü nonskuamöz KHDAK, 1'i pleomorfik karsinomdur.

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

Hastalardan 19’unda tek metastaz, 10 hastada 2 metastaz, 10 hastada 3 metastaz, 1 hastada 4, 1 hastada 5 metastaz saptanmıştır. En sık kemik ve karşı akciğer metastazı saptanmıştır ve hastaların metastaz özellikleri Tablo 7 de verilmiştir.

Tablo 7. Hastaların metastaz özellikleri

Kemik metastazı, n (%)	21 (43.8)
Karşı akciğer metastazı, n (%)	18 (37.5)
Beyin metastazı, n (%)	11 (22.9)
Surrenal metastazı, n (%)	10 (20.8)
Pleura metastazı, n (%)	8 (16.7)
Karaciğer metastazı, n (%)	7 (14.6)

EGFR mutasyon durumu:

Tüm hastalarda EGFR somatik mutasyonu (ekzon 19 delesyonu, ekzon 20 T790M mutasyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu) çalışılmış ve 18 hastada (%37.5) mutasyon saptanmıştır. Bu 18 hastadan dokuzunda ekzon 20 mutasyonu, 7 hastada ekzon 19 mutasyonu, 2 hastada ekzon 21 mutasyonu saptanmıştır. 30 hastada mutasyon saptanmamıştır ve wild tip olarak raporlanmıştır.

Klinik ve patolojik özelliklerle korelasyon sonuçları:

EGFR mutasyon durumu ile cinsiyet arasındaki ilişki değerlendirildiğinde 7 kadın hastadan 5’inde (%71.4) ve 41 erkek hastanın 13’ünde (%31.7) EGFR mutasyonu saptanmıştır. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,086$). Sigara içme durumu bakımından incelendiğinde sigara içmeyen 5 hastanın 5’inde (%100) EGFR mutasyonu saptanırken, sigara içen 43 hastanın 13’ünde (%30,2) EGFR mutasyonu saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

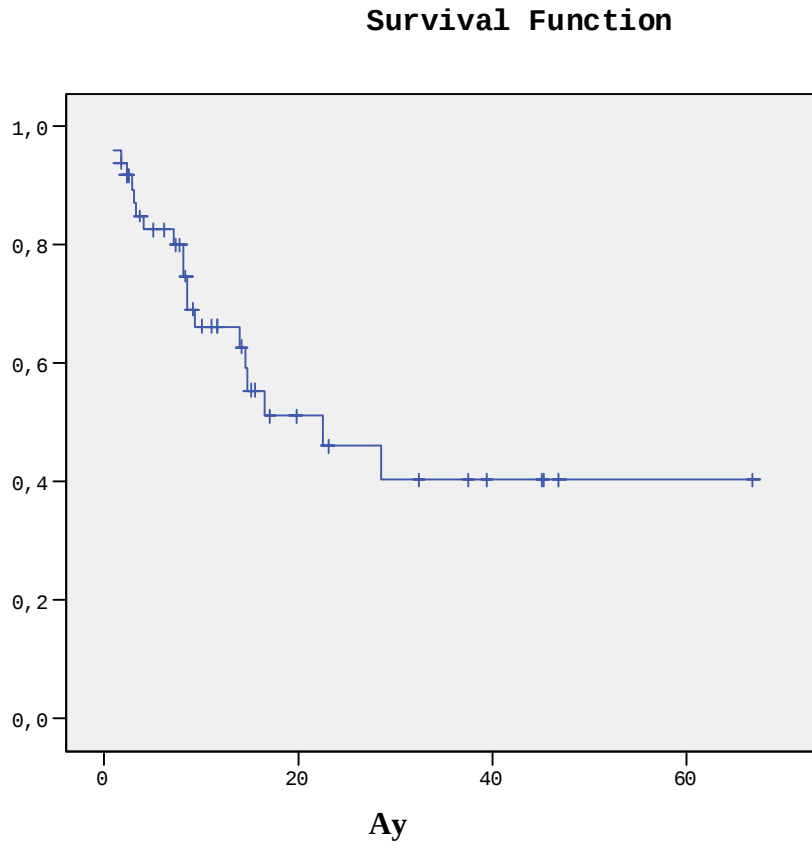
Histolojik özelliklerle EGFR mutasyonu arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde adenokarsinom histolojisi bulunan 32 hastanın 13’ünde (%40.6), diğer histoloji bulunan 16 hastanın 5’inde (%31.3) EGFR mutasyonu saptanmıştır ve aradaki fark istatistiksel anlamlılık

göstermemektedir ($p=0,527$).

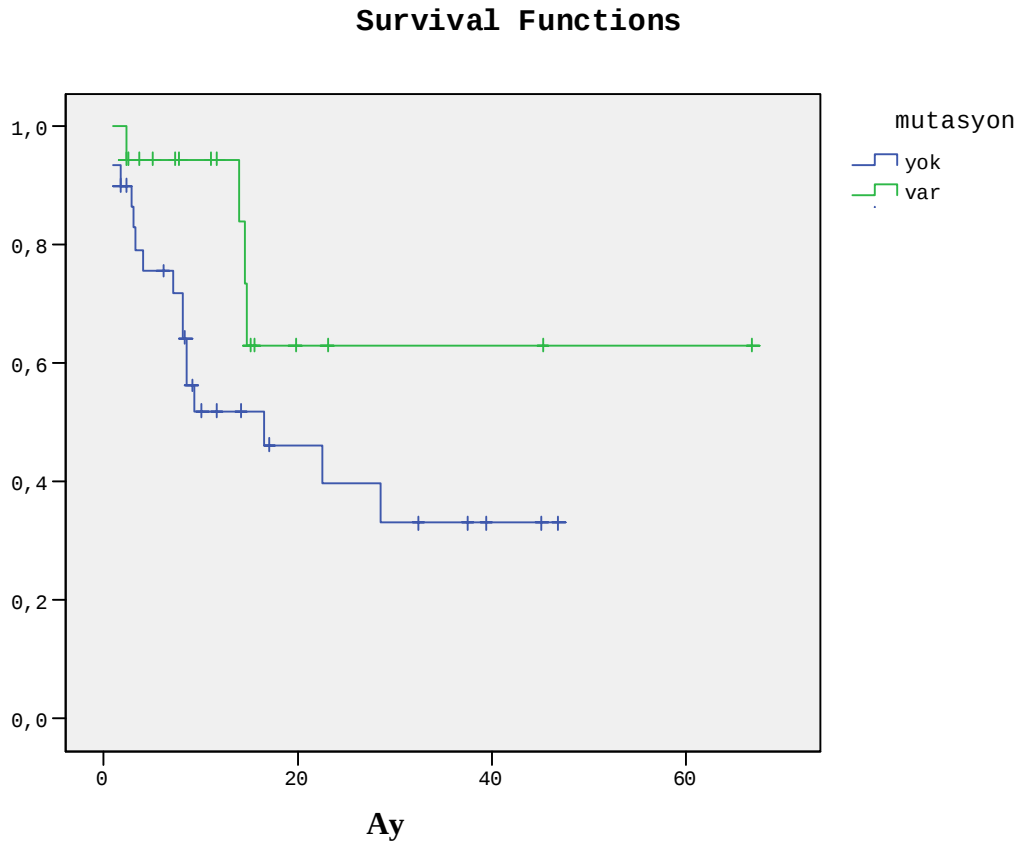
Beyin metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın 7sinde (%38.8) izlenirken wild tip olan 30 hastanın 4'ünde (%13.3) saptanmıştır ve aradaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir ($p=0,074$). Pleura metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın 3'ünde (%16.6), wild tip olan 30 hastanın 5'inde (%16.7) saptanmıştır fakat istatistiki olarak anlamlı saptanmamıştır ($p=1,0$). Karşı akciğer metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın 8'inde (%44.4), wild tip olan 30 hastanın 10'unda (%33.3) saptanmıştır fakat istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır ($p=0,44$). Kemik metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın 9'unda (%50), wild tip olan 30 hastanın 12'sinde (%40) saptanmıştır fakat istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,49$). Karaciğer metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın üçünde (%16.6), wild tip olan 30 hastanın 4'ünde (%13.3) saptanmıştır fakat istatistiki olarak anlamlı değildir ($p=1,0$). Surrenal metastazı EGFR mutasyonu pozitif olan 18 hastanın üçünde (%16.6), wild tip olan 30 hastanın yedisinde (%23.3) saptanmıştır fakat istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır ($p=0,72$).

Sağkalım analizi sonuçları:

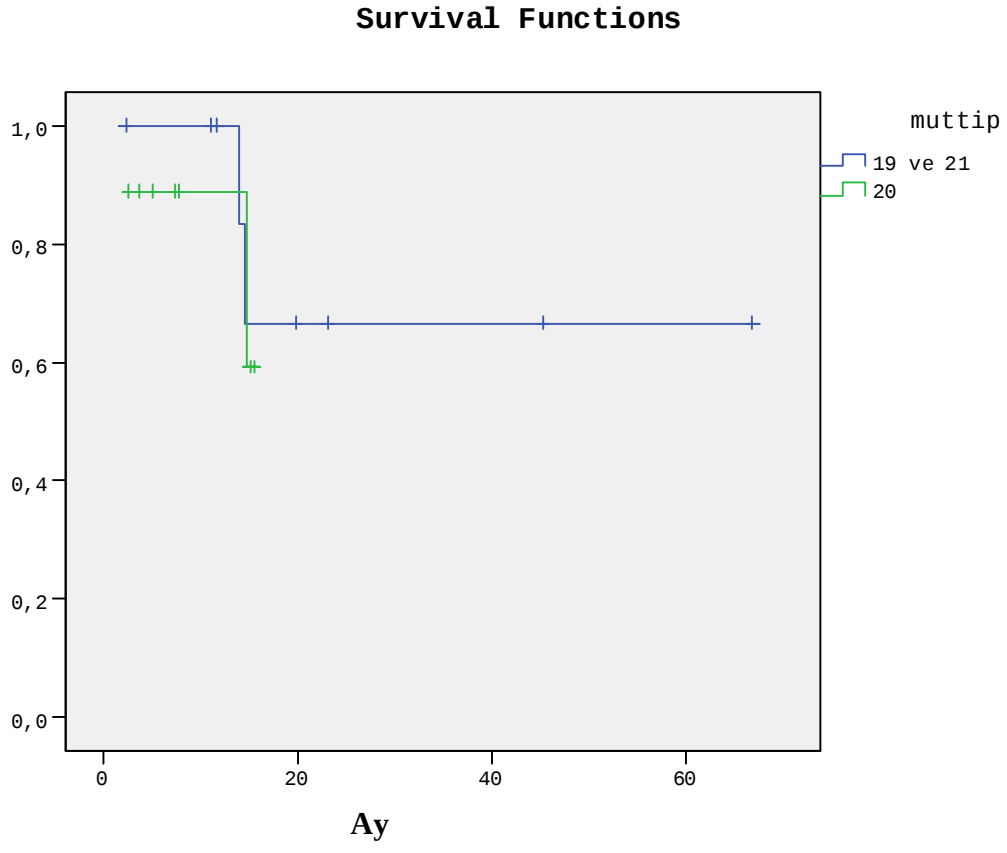
Hastaların ortalama takip süresi 14 ay (1-67 ay) dır. Tüm hastaların 1 yıllık sağkalım oranı %84.7 ve iki yıllık sağkalım oranı %69 saptanırken; ortalama sağkalım süresi 33.7 ± 5.1 ay olarak saptanmıştır. EGFR mutasyonu pozitif olanlarda ortalama sağkalım süresi 46.8 ± 8.1 ay, wild tip olanlarda ortalama sağkalım 22.3 ± 3.8 ay olarak saptanmış olup istatistiki olarak anlamlılık saptanmamıştır ($p=0,08$). Sağkalım sonuçları EGFR mutasyon tipine göre değerlendirildiğinde ekzon 19 ve 21 mutasyonu pozitif olanlarda ortalama sağkalım süresi 49.3 ± 10.1 ay, ekzon 20 mutasyonu olanlarda ortalama sağkalım 13.8 ± 1.8 ay olarak bulunmuş ancak aradaki fark istatistiki olarak anlamlı saptanmamıştır ($p=0,71$). Ekzon 19 ve 21 mutasyonu olan 4 hasta EGFR inhibitörü kullanırken ekzon 20 mutasyonu olan hastaların tümü EGFR inhibitörü kullanmamıştır. Hastaların ortalama sağkalım eğrileri Şekil 1'de, mutasyon durumuna göre ve mutasyon tipine göre sağkalım eğrileri ise Şekil 2 ve 3'te gösterilmiştir.



Şekil 1. Hastaların ortalama sağkalım süresi



Şekil 2. Hastaların mutasyon durumuna göre sağkalım süresi



Şekil 3. Mutasyon tipine göre sağkalım süresi

5.TARTIŞMA

Akciğer kanseri günümüzde en ölümcül kanser türüdür. Son 30 yılda kemoterapi, RT ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemelere rağmen mortalite hızında belirgin değişiklik saptanmamıştır. Son 10 yılda kanser tedavisinde hedefe yönelik ilaçlarla belirli kanser türlerinde (örneğin gastrointestinal stromal tümör) anlamlı sağkalım avantajı sağlanmıştır. KHDAK’de de günümüzde farklı hedefler tanımlanmış ve bunlardan EGFR ve anjiyogenez yolu ile yakın dönemde EML-AKT yolunu inhibe eden ajanlarla anlamlı sağkalım avantajı sağlanmıştır.

Çalışmamızda EGFR mutasyon sıklığı %37.5 oranında saptanmıştır. EGFR mutasyonu sıklığı ile ilgili olarak şu ana kadar ülkemizde yapılmış bir çalışma yoktur. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda ise farklı sonuçlar bildirilmiş ve ırksal özelliklere göre belirgin farklılıkların olduğu dikkati çekmiştir. Özellikle Asya’da sarı ırkta yapılan çalışmalarda yüksek sıklıkta (%40,8) mutasyon saptanırken (57), aksine Latin Amerika’da yapılan bir çalışmada daha düşük sıklıkta (%33,2) bulunmuş fakat Latin Amerika ülkeleri arasında da ciddi farklılıkların olduğu saptanmıştır. Örneğin Arjantin’de %19 iken Peru’da %67 sıklığında EGFR mutasyonu saptanmıştır (58). Afrikan Amerikalılarda yapılmış bir çalışmada da mutasyon sıklığı %11 gibi düşük bir oranda bulunmuştur (59). Aynı şekilde İngiltere’de yapılan çalışmada da %11 sıklığında saptanmıştır (60). Genel olarak Asyada yapılan çalışmalarda mutasyon sıklığı daha fazla izlenirken, avrupada yapılanlarda daha düşük oranda olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda ise EGFR mutasyon sıklığının yüksek çıkmasının nedeninin esas olarak seçilmiş hastalarda yapılmış olmasından kaynaklandığını düşünüyoruz. Bunun dışında ülkemizin Asya ile Avrupa arasında yer alması nedeniyle bunun da etkisi olabilir. Mevcut verilerle bu konuda kesin bir yargıda bulunmak mümkün değildir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonu için günümüzde bilinen en önemli klinik prediktörlerden birisi cinsiyettir ve kadın cinsiyet erkek cinsiyete göre baskın görülmektedir (61). Kadın cinsiyette EGFR mutasyonun daha sık görülmesi en tipik Asya’da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (57). Batı toplumunda yapılan çalışmalarda bu konuda Asya’daki verilere benzer şekilde çıkmış ve kadın cinsiyet en önemli prediktörlerden biri olarak saptanmıştır (58-60). Bizim çalışmamızda da literatür verilerine paralel olarak kadın cinsiyette daha sık mutasyon saptanmıştır. Ancak kadın hasta sayısının az olması nedeniyle istatistiki olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır.

Hastada sigara öyküsünün olmaması ile EGFR mutasyonu saptanması arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmektedir (61). EGFR mutasyonu ile sigara arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada 15 paket yıldan az içenlerle daha fazla içenler kıyaslanmış ve daha az içenlerde anlamlı olarak EGFR mutasyonunun daha fazla olduğu saptanmıştır (62). Benzer şekilde bir başka çalışma da 25 paket yıldan az içenlerle daha fazla içenleri kıyaslamışlar ve 25 paket yıldan fazla içenlerde EGFR mutasyonunun daha az olduğu saptanmıştır (63). Ayrıca her iki çalışmada sigara içmeyenlerde daha fazla EGFR mutasyonu saptanmıştır. Bir başka önemli çalışma da hiç sigara içmeyenlerde yapılmış ve pasif sigara içicilerde pasif sigara içicisi olmayanlara göre EGFR mutasyonu daha az sıklıkta saptanmıştır (64). Sigara anamnezi ile EGFR mutasyonu arasındaki ilişkiyi irdeleyen bir meta analizde de sigara içmeyenlerde sigara içenlere göre 4,8 kat daha fazla EGFR mutasyonu olduğu rapor edilmiştir (65). Genel olarak çalışmalar değerlendirildiğinde hiç sigara içmeyenlerde EGFR mutasyonunun en fazla görüldüğü, sigara içmenin miktarı arttıkça hatta sigara içmese bile çevresel sigara maruziyeti ile de EGFR mutasyonu sıklığının azaldığı dikkati çekmektedir. Sigara içenlerde EGFR mutasyonunun daha az sıklıkta görülmesinin önemli nedenlerinden birisi bu grup hastalarda K-ras mutasyonunun daha yaygın olarak bulunması olarak belirtilmektedir. Genellikle K-ras mutasyonu ile EGFR mutasyonu birbirini dışlayan mutasyonlar olduğu için sigara içenlerde EGFR mutasyonu daha az izlenmektedir. Bizim çalışmamızda literatür verileri ile uyumlu bir şekilde sigara içmeyen grubun tamamında EGFR mutasyonu saptanmış ve sigara içen grupla kıyaslandığında anlamlı oranda daha yüksek mutasyon sıklığının bulunduğu gözlenmiştir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonu ile güçlü ilişkisi olan bir başka faktör de adenokarsinom histolojisidir (57). Diğer KHDAK histolojik tiplerinde de gerek vaka sunumu gerekse seriler şeklinde EGFR mutasyonu varlığını bildiren yayınlar bulunmaktadır. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomda da vaka sunumu olarak rapor edilmiştir (66). Çin’de yapılan ve 1195 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada adenokarsinom histolojisinde %38, skuamöz hücreli karsinomda %4, büyük hücreli karsinomda %2 sıklığında EGFR mutasyonu saptanmıştır (67). Nadir KHDAK tipi olan pleomorfik karsinomda ve adenoskuamöz hücreli karsinomla da sırasıyla %15 ve %38 oranında EGFR mutasyonu saptandığı rapor edilmiştir (68, 69). Adenokarsinom histolojisinde EGFR mutasyon sıklığını araştıran Güney Kore’de yapılan çalışmada %24 sıklığında saptanmıştır (70). Yine Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada %19 sıklığında saptanmıştır (71). Nadir bir alt tip olan sarkomatoid karsinomla ilgili

yapılan çalışmada 33 hastadan 9'unda EGFR mutasyonu saptanmıştır (72). Genel olarak adenokarsinom histolojisinde EGFR mutasyonu %15-35 arasında saptanırken diğer KHDAK tiplerinde %3-5 gibi düşük oranda olduğudur. Bizim çalışmamızda adenokarsinom histolojisinde daha sık saptanırken bu yükseklik istatistiksel anlamlığa ulaşmamıştır.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonu ile metastatik bölgeler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde literatürde bununla ilgili farklı sonuçların olduğu dikkati çekmektedir. Bir çalışmada karaciğer metastazı olanlarda daha sık EGFR mutasyonunun görüldüğü bildirilmekle birlikte bu çalışmada EGFR mutasyonu pozitif olanlar ile EGFR, K ras ve EML-AKT mutasyonu negatif olan grupla (triple negatif) karşılaştırılmıştır (73). Güney Kore'den yapılan 125 hastalık bir çalışmada ise EGFR mutasyonu ile plevra metastazı arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (74). Bir başka az hasta sayılı çalışmada da yaygın akciğer metastazı ile ekzon 19 mutasyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (75). Büyük hasta sayılı bir çalışmada da yaygın akciğer metastazı ile EGFR mutasyonu arasında anlamlı ilişki doğrulanmıştır (76). Bizim çalışmamızda beyin ve karşı akciğer metastazı mutasyon grubunda fazla saptanmış fakat istatistiki anlama ulaşmamıştır. Bu da hasta sayısının azlığına bağlı olabilir. Metastatik bölge ve EGFR mutasyonu arasındaki ilişkiyi araştırarak daha yüksek hasta sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonunun KHDAK'inde iyi prognoz ve uzun sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Özellikle EGFR yolağını inhibe eden ilaçların kullanımı ile sağkalım avantajı daha da belirgin hale gelmiştir. Mutasyon pozitif olanlar wild tip olanlara göre daha iyi prognoz gösterirken mutasyon olan ekzon bölgesine de göre prognoz ve survi farklılık göstermektedir (77-80). Ekzon 20 mutasyonu kötü prognoz ile ilişkilendirilirken, ekzon 19 ve 21 mutasyonları ise iyi prognoz ve uzamış sağkalım ile bağlantılı bulunmuştur (77-80). Aynı zamanda ekzon 19 ve 21 mutasyonunun anti-EGFR tedaviler için iyi bir yanıt göstergesi olduğu, aksine ekzon 20 mutasyonunun ise dirence neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ekzon 19 ve 21 mutasyonları arasında da anti-EGFR tedaviye duyarlılık bakımından fark olduğu, ekzon 19 mutasyonu olan hastalarda daha yüksek yanıtların elde edildiği ifade edilmektedir. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu sonuçlar edilmiş olup mutasyonu olanlarda wild tipe göre daha uzun sağkalım, ve ekzon 19 ve 21 mutasyonu olanlarda da ekzon 20 mutasyonu olanlara göre daha iyi sağkalım saptanmıştır, ancak hasta sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel anlamlığa ulaşamamıştır.

Sonuç olarak EGFR mutasyonu KHDAK’nde belli klinik ve patolojik özelliklerle birliktelik göstermektedir. Mutasyon varlığı sağkalım açısından da olumlu bir prognostik gösterge olarak yer almaktadır. Aynı zamanda ekzon 19 ve 21 mutasyonu anti-EGFR tedavilere yanıt bakımından olumlu bir gösterge iken, ekzon 20 mutasyonu ise direnci işaret etmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bu açıdan literatür ile benzerlik gösterirken, metastatik bölgeler ile EGFR mutasyonu arasında ise anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ülkemizin zellikle Asya ile Avrupa arasında yer alması nedeniyle ülkemizden yapılacak daha geniş seri çalışmalar hem mutasyon sıklığı ve dağılımı bakımından hem de tedavi yanıtları ve sağkalım bakımından önemli bilgiler verecektir.

ÖZET

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri hastalarında EGFR mutasyon durumu ile klinikopatolojik özelliklerin korelasyonu

Giriş ve Amaç: Bu araştırmada KHDAK hastalarında EGFR ekzon 18, 19, 20, 21 ekzon mutasyonu analizi ile klinikopatolojik özellikleri ve prognozun kıyaslanması amaçlanmıştır.

Hastalar ve Yöntem: EGFR ekzon 18,19,20 ve 21 mutasyonları parafin boyalı tümör dokuları PCR ile amplifiye edildi ve ardından direk sekansiyel 4 spesmen incelenmiştir. EGFR mutasyon durumu ile klinikopatolojik özellikleri ve prognozu analiz edilmiştir.

Sonuçlar: 48 hastadan 18 hastada (%42.6) EGFR mutasyonu saptanmıştır. 9 hastada ekzon 20 mutasyonu, 7 hastada ekzon 19 mutasyonu, 2 hastada ekzon 21 mutasyonu saptanmıştır. EGFR mutasyonu kadınlarda (%71.4, 5/7) erkeklerden(%31.7, 13/41) daha sık saptanmıştır($p=0.086$). Sigara içmeyenlerde (100%, 5/5), sigara içenlerde (30.2%, 13/43), EGFR mutasyonu saptanmıştır ve sigara öyküsü ile negatif korelasyon saptanmıştır($p=0.005$). EGFR mutasyonu adenokarsinom (40.6%, 13/32) diğer histolojik tiplerden (31.3%, 5/16). daha sık saptanmıştır($p=0.527$). EGFR mutasyonu olan hastalar wild tip olanlardan daha iyi survi gösterir ($p=0.08$). EGFR mutasyonu ile metastatik bölgeler arasında ilişki saptanmamıştır.

Tartışma: EGFR mutasyonu kadın, sigara içmeyenlerde ve adenokarsinom histolojisinde daha sıktır. EGFR mutasyonu olan hastalar iyi prognoza sahiptir. Sonuçta seçilmiş hastalarda anti-EGFR hedefleyen tedaviler kullanılmalıdır.

SUMMARY

Relationship of Epidermal Growth Factor Receptor gene mutations, clinicopathologic features in patients with non-small cell lung cancer.

OBJECTIVE: To investigate epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations in exons 18, 19, 20 and 21 of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and to analyze the relationship of EGFR mutations with clinicopathological features and prognosis.

METHODS: The EGFR gene exons 18,19, 20 and 21 of paraffin-embedded tumor tissue were amplified by PCR, followed by direct sequencing in 48 specimens of NSCLC. The relationship of EGFR gene mutations in NSCLC with clinicopathological features and prognosis were analyzed.

RESULTS: EGFR mutations were detected in 18 of 48 (42.6%) patients with NSCLC. There were 9 cases of the mutations in exon 20, 7 cases of the mutations in exon 19 and 2 cases of the mutations in exon 21. Mutations were more frequently observed in women (71.4%, 5/7) than in men (31.7%, 13/41) ($p=0.086$). Non-smokers (100%, 5/5) than smokers (30.2%, 13/43), there was negative correlation of EGFR mutations with smoking status ($p=0.005$). EGFR mutations were more frequently observed in adenocarcinomas (40.6%, 13/32) than in other types (31.3%, 5/16) ($p=0.527$). The patients with EGFR mutations had better survival than those with wild-type EGFR ($p=0.08$). There was no association of EGFR mutations with metastatic spread.

CONCLUSIONS: EGFR mutations occur frequently in females, non-smokers and adenocarcinomas. The patients with EGFR mutations have better prognosis. The results may offer a practical approach to select the patients who may benefit from anti-EGFR target therapy.

KAYNAKLAR

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, et al. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011; 61(2):69-90.
2. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999; 49(1):33-64.
3. World Health Organization. (2004) The Health Report.
4. Goksel T, Yıldız P, Altın S. Akciğer kanseri. Türk Toraks Derneği Beyaz Kitap 2010,55-70.
5. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. Chest 2003;123(1 Suppl):21-49.
6. Kaufman EL, Jacobson JS, Hershman DL, Desai M, et al. Effect of breast cancer radiotherapy and cigarette smoking on risk of second primary lung cancer. J Clin Oncol 2008; 26(3):392-8.
7. Hodgson DC, Koh ES, Tran TH, Heydarian M, et al. Individualized estimates of second cancer risks after contemporary radiation therapy for Hodgkin lymphoma. Cancer 2007; 110(11):2576-86.
8. Lorigan P, Radford J, Howell A, Thatcher N. Lung cancer after treatment for Hodgkin's lymphoma: a systematic review. Lancet Oncol 2005; 6(10): 773-9.
9. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161(1):5-8.
10. Boone CW, Kelloff GJ, Malone WE. Identification of candidate cancer chemopreventative agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. Cancer Res 1990; 50(1): 2-9.
11. Feskanich D, Ziegler RG, Michaud DS, Giovannucci EL. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk factor lung cancer among men and women. J Natl Cancer Inst 2000; 92(22): 1812-23.
12. Steward BW, Kleihues P. World Cancer Report, WHO International Agency for Research on Cancer, IARC Pres, Lyon, 2003.
13. Türk Toraks Derneği, Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi Rehberi,2006;7.

14. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. In: World Health Organization classification of tumours, Travis, WD, Brambilla, E, Muller-Hermlink, HK, Harris, CC (Eds), IARC Press, Lyon 2004.
15. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, et al. International Association for the study of lung cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2011; 6(2): 244-85.
16. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007; 2(8): 706-14.
17. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O, Kooistra A, et al. K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990; 323(9):561-5.
18. Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52(9 suppl): 2665-9.
19. Graziano SL, Gamble GP, Newman NB, Abbott LZ, et al. Prognostic significance of K-ras codon 12 mutations in patients with resected stage I and II non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17(2): 668-75.
20. Mitsudomi T, Steinberg SM, Oie HK, Mulshine JL, et al. Ras gene mutations in non-small cell lung cancers are associated with shortened survival irrespective of treatment intent. *Cancer Res* 1991; 51(2): 4999-5002.
21. Nelson HH, Christiani DC, Mark EJ, Wiencke JK, et al. Implications and prognostic value of K-ras mutation for early-stage lung cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(23): 2032-8.
22. Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer* 2005; 92(1): 131-9.
23. Yaylim I, Isbir T, Oztürk O, Turna A, et al. Is there any correlation between restriction fragment length polymorphism of the L-MYC gene and metastasis of human nonsmall cell lung cancer? *Cancer Genet Cytogenet* 2002 ;134(2):118-22.

24. Hiyama K, Ishioka S, Shirotani Y, Inai K, et al. Alterations in telomeric repeat length in lung cancer are associated with loss of heterozygosity in p53 and Rb. *Oncogene* 1995; 10(5): 937-44.
25. Lane DP. Cancer. P53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358(6831): 15-6.
26. Ahrendt SA, Hu Y, Buta M, McDermott MP, et al. P53 mutations and survival in stage I non-small-cell lung cancer: results of a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(13): 961-70.
27. Tammemagi MC, McLaughlin JR, Bull SB. Meta-analyses of p53 tumor suppressor gene alterations and clinicopathological features in resected lung cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(7): 625-34.
28. Xu HJ, Quinlan DC, Davidson AG, Hu SX, et al. Altered retinoblastoma protein expression and prognosis in early-stage non-small-cell lung carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86(9): 695-9.
29. Xu HJ, Cagle PT, Hu SX, Li J, et al. Altered retinoblastoma and p53 protein status in non-small cell carcinoma of the lung: potential synergistic effects on prognosis. *Clin Cancer Res* 1996; 2(7): 1169-76.
30. Köktürk N, Kırıçoğlu CE, Öztürk C. Akciğer Kanseri moleküler biyolojisi. *Solunum* 2003; 5: 127-138.
31. Gazdar AF. DNA repair and survival in lung cancer--the two faces of Janus. *N Engl J Med* 2007; 356(8):771-3.
32. Velu TJ, Beguinot L, Vass WC, Willingham MC, et al. Epidermal-growth-factor-dependent transformation by a human EGF receptor proto-oncogene. *Science* 1987; 238(4832):1408-10.
33. Cohen S, Ushiro H, Stoscheck C, Chinkers M. A native 170000 epidermal growth factor receptor kinase complex from shed plasma vesicles. *J Biol Chem* 1982;257(3):1523-31.
34. Chen WS, Lazar CS, Poenie M, Tsien RY, et al. Requirement for intrinsic protein tyrosine kinase in immediate and late actions of the EGF receptor. *Nature* 1987;328(6133):820-3.
35. Rusch V, Klimstra D, Venkatraman E, Pisters PW, et al. Overexpression of the epidermal

growth factor receptor and its ligand transforming growth factor alpha is frequent in resectable non-small cell lung cancer but does not predict tumor progression. Clin Cancer Res 1997; 3(4): 515-22.

36. Wu CC, Hsu HY, Liu HP, Chang JW, et al. Reversed mutation rates of KRAS and EGFR genes in adenocarcinoma of the lung in Taiwan and their implications. Cancer 2008; 113(11): 3199-208.

37. Marks JL, Broderick S, Zhou Q, Chitale D, et al. Prognostic and therapeutic implications of EGFR and KRAS mutations in resected lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol 2008; 3(2): 111-6.

38. Hamilton M, Wolf JL, Rusk J, Beard SE, et al. Effects of smoking on the pharmacokinetics of Erlotinib. Clin Cancer Res 2006; 12(7 Pt 1): 2166-71.

39. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(36):13306-11.

40. Tokumo M, Toyooka S, Kiura K, Shigematsu H, et al. The relationship between epidermal growth factor receptor mutations and clinicopathologic features in non-small cell lung cancers. Clin Cancer Res 2005; 11(3): 1167-73.

41. Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. N Engl J Med 2009; 361(10): 958-67.

42. D'Angelo SP, Pietanza MC, Johnson ML, Riely GJ, et al. Incidence of EGFR exon 19 deletions and L858R in tumor specimens from men and cigarette smokers with lung adenocarcinomas. J Clin Oncol 2011;29(15):2066-70.

43. Schmid K, Oehl N, Wrba F, Pirker R, et al. EGFR/KRAS/BRAF mutations in primary lung adenocarcinomas and corresponding locoregional lymph node metastases. Clin Cancer Res 2009; 15(14): 4554-60.

44. Balak MN, Gong Y, Riely GJ, Somwar R, et al. Novel D761Y and common secondary T790M mutations in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas with acquired resistance to kinase inhibitors. Clin Cancer Res 2006; 12(21): 6494-501.

45. Yan TD, Black D, Bannon PG, McCaughan BC. Systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized trials on safety and efficacy of video-assisted thoracic surgery lobectomy for early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27(15): 2553-62.
46. Ferguson MK, Lehman AG. Sleeve lobectomy or pneumonectomy: optimal management strategy using decision analysis techniques. *Ann Thorac Surg* 2003; 76(6): 1782-8.
47. Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. *Ann Thorac Surg* 1995; 60(3): 615-22.
48. Rowell NP, Williams CJ. Radical radiotherapy for stage I/II non-small cell lung cancer in patients not sufficiently fit for or declining surgery (medically inoperable). *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (2):CD002935.
49. Arriagada R, Bergman B, Dunant A, Le Chevalier T, et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(4):351-60.
50. Feng QF, Wang M, Wang LJ, Yang ZY, et al. A study of postoperative radiotherapy in patients with non-small-cell lung cancer: a randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 47(4): 925-9.
51. Johnstone DW, Byhardt RW, Ettinger D, Scott CB. Phase III study comparing chemotherapy and radiotherapy with preoperative chemotherapy and surgical resection in patients with non-small-cell lung cancer with spread to mediastinal lymph nodes (N2); final report of RTOG 89-01. Radiation Therapy Oncology Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002 ;54(2):365-9.
52. Pass HI, Pogrebniak HW, Steinberg SM, Mulshine J, et al. Randomized trail of neoadjuvant therapy for lung cancer: Interim analysis. *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 992-8.
53. Rosell R, Gomez-Codina JG, Camps C, Javier Sanchez J, et al. Preresectional chemotherapy in stage IIIA non-small-cell lung cancer: a 7-year asesment of a randomized controlled trial. *Lung Cancer* 1999; 47: 7-14.
54. Yoneda S, Yamamoto M, Sakura M, Izumo T, et al. Induction chemoradiotherapy followed by surgery for stage III non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1993; 23(3):173-7.

55. Albain KS, Rusch VW, Crowley JJ, Rice TW, et al. Concurrent cisplatin/ etoposid plus chest radiotherapy followed by surgery for stage IIIA(N2) and IIIB non-small cell lung cancer: Mature results of Southwest Oncology Group Phase II study 8805. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1880-92.
56. Dillman RO, Seagren SL, Propert KJ, Guerra J, et al. A Randomized Trial of Induction Chemotherapy plus high-dose radiation versus radiation alone in stage III NSCLC. *N Engl J Med* 1990; 323: 940-5.
57. Wu C, Hsu H, Liu H, Chang JW, et al. Reversed Mutation rates of K Ras and EGFR Genes in Adenocarcinomas of the Lung in Taiwan and their implications. *Cancer* 2008; 113: 3199-208.
58. Arrieta O, Cardona AF, Bramuglia GF, Gallo A, et al. Genotyping Non-Small Cell Lung Cancer(NSCLC) in Latin America. *J Thorac Oncol* 2011; 6:1955-9.
59. Cote ML, Haddad R, Edwards DJ, Atikukke G, et al. Frequency and type of epidermal growth factor mutations in African Americans with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6(3): 627-30.
60. Leary AF, De Castro DG, Nicholson AG, Asley S, et al. Establishing an EGFR mutation screening service for nonsmall cell lung cancer-sample quality criteria and candidate histological predictors. *Eur J Cancer* 2012; 48: 61-7.
61. Toyooka S, Matsuo K, Shimegatsu H, Kosaka T, et al. The impact of sex and smoking status on the mutational epidermal growth factor receptor genes in Non-small cell lung cancer. *Clin Can Res* 2007; 13: 5763-8.
62. Yi-Sheng H, Jin-ji Y, Xu-Chao Z, Xue-Ning Y, et al. Impact of smoking status and pathologic type epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Chin Med J* 2011; 124(16): 2457-60.
63. Lee YJ, Shim HS, Kang YA, Hong SJ, et al. Dose effect of cigarette smoking on frequency and spectrum of epidermal growth factor receptor gene mutations in Korean patients with non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136(12): 1937-44.
64. Lee YJ, Cho BC, Jee SH, Moon JW, et al. Impact of environmental tobacco smoke on the incidence of mutations in epidermal growth factor receptor gene in never-smoker patients with

non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010; 28(3): 487-92.

65. Ren JH, He WS, Yan GL, Jin M, et al. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer among smokers and non-smokers: a meta-analysis. *Environ Mol Mutagen* 2012; 53(1): 78-82.

66. De Pas TM, Giovannini M, Manzotti M, Trifirò G, et al. Large-cell neuroendocrine carcinoma of the lung harboring EGFR mutation and responding to gefitinib. *J Clin Oncol* 2011; 29(34): 819-22.

67. Huang YS, Yang JJ, Zhang XC, Yang XN, et al. Impact of smoking status and pathologic type on epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Chin Med J (Engl)*. 2011; 124(16): 2457-60.

68. Lee S, Kim Y, Sun JM, Choi YL, et al. Molecular profiles of EGFR, K-ras, c-met, and FGFR in pulmonary pleomorphic carcinoma, a rare lung malignancy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(8): 1203-11.

69. Jia XL, Chen G. EGFR and KRAS mutations in Chinese patients with adenosquamous carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2011; 74(3): 396-400.

70. Jang TW, Oak CH, Chang CK, Suo SJ, et al. EGFR and KRAS mutations in patients with adenocarcinoma of the lung. *Korean J Intern Med* 2009; 24: 48-54.

71. Reinersman JM, Johnson ML, Riely GJ, Chitale DA, et al. Frequency of EGFR and KRAS mutations in lung adenocarcinomas in African-American. *J Thorac Oncol* 2011; 6(1): 28-31.

72. Jiang X, Liu Y, Chen C, Zhan Z, et al. The value of biomarkers in patients with sarcomatoid carcinoma of the lung: molecular analysis of 33 cases. *Clin Lung Cancer*. 2012 ; 13(4): 288-96.

73. Doebele RC, Lu X, Sumey C, Maxson DA, et al. Oncogene status predicts patterns of metastatic spread in treatment-naïve nonsmall cell lung cancer. *Cancer* 2012;118(18): 4502-11.

74. Na II, Park JH, Choe du H, Lee JK, et al. Association of epidermal growth factor receptor mutations with metastatic presentations in non-small cell lung cancer. *ISRN Oncol* 2011; 2011: 756265.

75. Laack E, Simon R, Regier M, Andritzky B, et al. Miliary never-smoking adenocarcinoma of

the lung: strong association with epidermal growth factor receptor exon 19 deletion. *J Thorac* 2011; 6(1): 199-202.

76. Togashi Y, Masago K, Kubo T, Sakamori Y, et al. Association of diffuse, random pulmonary metastases, including miliary metastases, with epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma. *Cancer* 2011 ; 117(4): 819-25.

77. Wu JY, Wu SG, Yang CH, Gow CH, et al. Lung cancer with epidermal growth factor receptor exon 20 mutations is associated with poor gefitinib treatment response. *Clin Cancer Res* 2008 ;14(15):4877-82.

78. Jackman DM, Yeap BY, Sequist LV, Lindeman N, et al. Exon 19 deletion mutations of epidermal growth factor receptor are associated with prolonged survival in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib. *Clin Cancer Res* 2006; 12(13): 3908-14.

79. Sun JM, Won YW, Kim ST, Kim JH, et al. The different efficacy of gefitinib or erlotinib according to epidermal growth factor receptor exon 19 and exon 21 mutations in Korean non-small cell lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137(4):687-94.

80. Li M, Zhang Q, Liu L, Liu Z, et al. The different clinical significance of EGFR mutations in exon 19 and 21 in non-small cell lung cancer patients of China. *Neoplasma*. 2011;58(1):74-81.